

前城 学 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

Colonization of distant organs by tumor cells generating circulating homotypic clusters adaptive to fluid shear stress

(流体せん断応力適応性循環ホモクラスターを形成する腫瘍細胞による遠隔臓器の占拠)

腫瘍転移においては、原発巣に発生した腫瘍細胞が循環腫瘍細胞 (circulating tumor cells, CTCs) となって血中をめぐり、播種性腫瘍細胞 (disseminated tumor cells, DTCs) として遠隔臓器に到着し、腫瘍が進展していくと考えられている。近年、腫瘍の不均一性が注目されており、原発巣を構成する腫瘍細胞には様々なクローン由来のものが混在することが知られているが、原発巣、CTCs、DTCs と腫瘍の進展過程においてどのようなクローン選択が行われているかは十分明らかになっていない。そこで、申請者は、クローン選択の観点から、腫瘍細胞が遠隔臓器に播種・生着する機構を解明することを目的に研究を行なった。

ヒトの頭頸部扁平上皮癌細胞株である SAS-GL 細胞を用い担癌マウスモデルを作製し、高解像度 DNA バーコーディング法により原発巣、CTCs、DTCs のクローン多様性を比較解析した。すなわち、DNA バーコードで標識した SAS-GL 細胞を免疫不全マウスに同所移植し、移植部 (原発巣)、末梢血 (CTCs)、骨髓 (DTCs) からサンプリングした腫瘍において検出されたバーコードの内訳を、次世代シーケンサーにて解析・比較した。その結果、末梢血中に豊富に存在する腫瘍細胞クローンが DTCs の多くを占めているということが確認された。次に、固有のバーコード配列を持つ 32 個のシングルクローンを樹立してマウスに移植し、CTCs や DTCs を占拠するクローンが有する表現型や分子的特性について解析を行ったところ、このクローンは、静的環境下では目立った特徴は示さなかったものの、流体せん断応力 (fluid shear stress, FSS) 存在下においては、E カドヘリン依存的に、安定した細胞凝集体を形成・維持することがわかった。その後の様々な分子生物学的解析から、細胞表層直下のアクトミオシンを調節する能力が、FSS 環境下での安定した凝集体形成・維持に重要であることが示唆された。さらに、RNA シーケンスを用いた遺伝子発現プロファイリングの結果、凝集体形成能を有する細胞は、アクチン細胞骨格制御分子で特徴付けられる E カドヘリン結合分子群を高発現する特徴的な遺伝子発現パターン (= EBP-H signature と命名) を示すことがわかった。TCGA データベースを用いた頭頸部扁平上皮癌患者症例における遺伝子発現解析では、EBP-H signature の高値は遠隔局所での再発と有意に相関することが示された ($p=0.024$)。以上より、腫瘍の遠隔臓器への播種・生着過程においては、血中の流体せん断応力に適応する腫瘍細胞クローンが選別されている可能性が示唆された。

審査では、1) 流体せん断応力負荷の実験条件、2) 細胞凝集体を形成する細胞における E カドヘリンの存在量や局在変化に対する考察、3) 今回発見した現象と上皮間葉転換との関係性、4) 患者検体を用いた循環腫瘍細胞解析への応用性、5) 細胞凝集体を形成する腫瘍細胞クローンのゲノム上の変化、6) 流体せん断応力が細胞に与える影響の持続性についての考察、7) 腫瘍転移における播種性腫瘍細胞と細胞休眠状態の関係性、8) 肉腫の転移過程との差異、などについて多くの質問がなされ、申請者からは概ね適切な回答や考察が得られた。

本研究は、頭頸部扁平上皮癌の遠隔臓器への播種・生着過程におけるクローン選択と循環腫瘍細胞クラスター形成の重要性を示したものであり、今後の頭頸部扁平上皮癌治療戦略の一助となる可能性を示したという点で、学位の授与に値すると評価された。

審査委員長 シグナル・代謝医学担当教授

諸石 寿朗